Lane Medical Library

Die Differenzierung der Streptokokken und Pneumokokken durch Optochin

---

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN.

VON

Gertrud Nachmann
aus Berlin

Tag der Promotion: 13. Februar 1915

Emil Ebering, Berlin NW., Mittelstr. 39

1915

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin.

Dekan: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **Bier.**
Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **Flügge.**

Meiner Mutter

Einleitung.

Die vorliegende Arbeit entstand aus dem Gedanken heraus, die Untersuchungen Morgenroths über die therapeutische Bedeutung des Optochins (Aethylhydrocupreins) im Tierkörper, durch welche bewiesen wurde, daß Pneumokokken schon durch sehr geringe Mengen von Optochin im Wachstum gehemmt werden, auch diagnostisch zu verwerten, besonders da Morgenroth selbst einmal angedeutet hat, daß es möglich sein müsse, durch Behandlung von Mäusen mit Optochin und der fraglichen Pneumokokkenkultur ein Urteil über den betreffenden Stamm abzugeben.

Daß die Pneumokokken auch in vitro dem Optochin gegenüber sich nicht behaupten können, hat zuerst Wright gezeigt, der an einigen Stämmen nachwies, daß sogar bei einer Verdünnung von Optochin 1 : 800 000 das Wachstum gehemmt werde. Dieser Wert stimmt nicht mit den Angaben von Neufeld und Schiemann überein, die ermittelten, daß Pneumokokken bei einer Optochinverdünnung, die zwischen 1 : 300 000 und 1 : 600 000 liegt, Wachstum aufweisen.

Da nun alle genannten Versuche mehr therapeutischen als diagnostischen Zwecken dienten und außerdem nur mit einer geringen Anzahl von Stämmen angestellt worden sind, so lag wohl die Notwendigkeit vor, an reichlicherem Material die Gültigkeit obiger Behauptungen zu erhärten und dadurch den

bis jetzt gebräuchlichen Mitteln zur Beurteilung der Pneumokokken — Tierversuch und das von Neufeld vorgeschlagene, von R. Levy als Diagnostikum für Pneumokokken eingeführte Natrium taurocholicum — noch ein drittes in Gestalt des Optochins zur Seite zu stellen, besonders da das erwähnte gallensaure Natrium, wie es in den Handel kommt, in seiner Güte schwankt.

Das Ziel des Versuches mußte also sein, an einer größeren Anzahl von Strepto- und Pneumokokken — denn nur um eine Differenzierung dieser beiden dürfte es sich in praxi wohl handeln — nachzuweisen, daß es ein Gebiet der Optochinverdünnung gibt, wo Streptokokken wachsen, Pneumokokken dagegen gehemmt werden. Außerdem sollte festgestellt werden, daß der Streptococcus mucosus, der schon bezüglich seiner Tierpathogenität und senier Auflösbarkeit im Taurochol zu den Pneumokokken gerechnet worden ist, auch durch sein Verhalten im Optochin ihnen einzureihen ist.

Charakteristik der gesammelten Stämme.

Der Versuch wurde in vitro angestellt, und zwar wurden geprüft: 21 Strepto-, 9 Pneumokokken, 3 Streptococci mucosi. Das Material, aus dem die Streptokokken gezüchtet wurden, war:

I. Streptokokken.

1. Eiter.
   a) Von einer Osteomyelitis tubercolosa (1 Stamm);
   b) aus einer Armphlegmone (1 Stamm);
   c) aus Abszessen, in einem Fall aus einer Wunde, in drei anderen Fällen von Erysipelkranken (4 Stämme);
   d) aus Empyemen (2 Stämme).

2. Blut von Sepsisfällen (2).
3. Rachenabstriche.
   a) Bei Meningitis (4);
   b) bei Angina lacunaris (2);
   c) vom normalen Rachen (1).
4. Sputum.
   a) von einer lobären Pneumonie (1);
   b) von einer Lungentuberkulose (1).
5. Stuhl von 2 Enteritiden.

Die Diagnose und Reinzüchtung der Streptokokken erfolgte durch das gefärbte Präparat, die Hammelblutplatte, Bouillon, Gelatine und Natrium taurocholicum.

Auf der Blutplatte zeigten sie teils starke, teils schwache Hämolyse. Einige wuchsen anhämolytisch mit bräunlich-grünlicher Verfärbung der Umgebung, erwiesen sich aber durch den Tierversuch und das Natrium taurocholicum als Streptococcus-viridans-Arten. In Bouillon wuchsen sie mit Ausnahme eines Stuhl-Streptokokkus klar mit Bodensatz. Gelatine wurde nicht verflüssigt; in Taurochol erfolgte keine Auflösung. Im gefärbten Präparat hatten sie mehr oder weniger lange grampositive Ketten. Genauere Angaben über jeden einzelnen Streptokokkus finden sich in Tabelle I (s. S. 9).

II. Pneumokokken.

Die Pneumokokken wurden gewonnen aus:

1. Eiter eines Empyems (1).
2. Sputum.
   a) Von Pneumonien (3);
   b) von Tuberkulosefällen (3).

3. Liquor cerebrospinalis bei einer Meningitis, die von einer Pneumonie ausgegangen war (1).
4. Douglaspunktat bei abszedierender Parametritis (1).

3. Streptococci mucosi.

Die Streptococci mucosi stammten:

1. Aus Liquor cerebrospinalis bei einer Meningitis, die von einer Otitis media ausgegangen war (1).
2. Aus Sputum.
   a) Von einer Lungentuberkulose (1);
   b) von einer Pneumonie (1).

Zur Diagnose und Reinzüchtung der Pneumokokken und der Mucosi dienten der Tierversuch, die Hammelblutplatte, die Taurocholprobe, Gelatine und das gefärbte Präparat. Sämtliche Stämme waren tierpathogen, wuchsen trübe in Bouillon, hatten kein Wachstum in Gelatine, wurden in Taurochol gelöst und zeigten auf der Blutplatte anhämolytische Kolonien mit grünlich-schwärzlicher Umgebung, die bei den Mucosusarten schleimige Beschaffenheit aufwiesen. Im Fuchsinpräparat, das aus dem Herzblut der Maus angefertigt wurde, zeigten sie die bekannte Lanzettform und lagen zu zweien oder zu kurzen Ketten vereinigt in Kapseln.

Eine Zusammenstellung aller Pneumokokken und Mucosusarten enthält Tabelle II (s. S. 10).

Alle bei dem Versuch gebrauchten Stämme wurden in Ascitesbouillon (1 : 6) kultiviert und wöchentlich zweimal umgeimpft, ausgenommen die Pneumokokken und die Streptococci mucosi, die wegen ihrer Empfindlichkeit täglich überimpft wurden.

Tabelle 1. **Streptokokken**

klinische Diagnose	Material	Blutplatte	Bouillon	Gelatine	Natrium taurocholicum	Morphologie
1. Tuberkulöse Osteomyelitis	Eiter	starke Hämolyse	klar mit Bodensatz	keine Verflüssigung	keine Auflösung	grampositive kurze Ketten
2. Phlegmone	„	schwache Hämolyse	„			„
3. Abszeß beim Erysipel (ltr. viridans)	„	keine Hämolyse, bräunlich-grünl. Färb. der Umgebung	„			„
4. Abszeß bei einer Wunde	„	schwache Hämolyse	„			lange „
5. Absz. b. Erysipel	„	„	„			„
6. „	„	„	„			„
7. Empyem (viridans)	„	keine Hämolyse, grünliche Färbung des Nährbodens	„			kurze „
8. „	„	starke Hämolyse	„			lange „
9. Septis	Blut	„	klar mit Bodensatz, bröcklig			„
10. „	„	schwache Hämolyse	klar mit Bodensatz			„
11. Meningitis	Rachenabstr.	„	„			„
12. „	„	„	„			„
13. „ (viridans)	„	keine Hämol., bräunlich-grünliche Färb. d. Umgeb.	„			kurze „
14. „ „	„	„	„			„
15. Angina	„	Hämolyse	„			„
16. „ (viridans)	„	keine Hämolyse, bräunlich-grünliche Färbung	„			„
17. Normaler (viridans)	„	„	„			„
18. Pneunomie (virid.)	Sputum	„	„			„
19. Lungentuberkulose	„	schwache Hämolyse	„			„
20. Enteritis	Stuhl	keine Hämol., bräunl. Verf. d. Umgeb., weiße Farbe d. Kolon. (b. auffallend. Licht)	trübe			„
21. „	„		klar			„

Tabelle II. **Pneumokokken**

Klinische Diagnose	Material	Blutplatte	Bouillon	Gelatine	In Natrium autrocholicum	Morphologie
1. Pneumonie	Sputum	keine Hämolyse, bräunl. Färbung des Nährbodens	trübe	kein Wachstum	erfolgte Auflösung	Grampositive Diplokokken in Lanzettform mit Kapseln (Präparat aus dem Tierkörper)
2. „	„	„				
3. Broncho-Pneumonie	„	„				
4. Meningitis	Liquor	„				
5. Lungentuberkulose	Sputum	keine Hämolyse, schwärzliche Färbung d. Umgebung				
6. „	„	keine Hämol., grünl. Färb.				
7. „	„	„				
8. Empyem	Eiter	„				
9. Parametritis abscedens	Douglaspunktat	keine Hämolyse, schwärzliche Verfärbung				
Streptococci mucosi.						
1. Meningitis	Liquor	k. Hämol., große schleim. Kolonien mit grünl. Färb. der Umgebung	trübe	kein Wachstum	erfolgte Auflösung	Diplokokken und kurze starre Ketten in Kapseln
2. Pneumonie	Sputum	„				
3. Lungentuberkulose	„	„				

Versuchsanordnung.

Die Versuchsanordnung war nun folgende:

1. Versuch.

Es wurde eine Stammlösung von Optochin in Aqu. dest. 1 : 1000 [0,1 g Substanz Optochin hydrochloricum*) auf 100 ccm Aqu. dest. aufgefüllt] unter sterilen Kautelen mit Ascitesbouillon um das 100fache verdünnt, so daß eine Optochinverdünnung 1 : 100 000 entstand, die deshalb gewählt worden war, weil nach Untersuchungen anderer (s. Einleitung) hier die Pneumokokken nicht wachsen sollten. Mit der Lösung 1 : 100 000 wurden mehrere Reagenzgläser gefüllt, die für die Sterilitätsprüfung auf 24 Stunden in den Brutschrank kamen. Zunächst wurden dann 3 Strepto- und 3 Pneumokokkenstämme geprüft, indem von 24stündigen Ascitesbouillonkulturen je 10 große Oesen in die Optochin-Ascitesbouillonröhrchen verimpft wurden. Zur Kontrolle wurde von jedem Stamme eine reine Ascitesbouillon beimpft, ferner eine Ascitesbouillon, zu welcher die gleiche Menge Aqu. dest. gefügt wurde, wie sie der in dem Versuchsröhrchen enthaltenen entsprach, um festzustellen, daß die Wachstumshemmungen nicht durch die Anwesenheit des destillierten Wassers hervorgerufen wurden. Nach 24stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37 ° zeigten die Kulturen folgendes Resultat:

---

* Hergestellt von den Vereinigten Chininfabriken Zimmer u. Co., Frankfurt a. M.

Tabelle III.

	Ascites-bouillon	Ascitesbouillon mit Aqu. dest.	Optoehin-Ascites-bouillon 1=1000000
Strepto-coccus 1	+	+	+
„ 2	+	+	+
„ 3	+	+	+
Pneumo-coccus 1	+	+	−
„ 2	+	+	−
„ 3	+	+	−

Die Pneumokokkenstämme waren in den Optochinröhrchen nicht gewachsen, während die zugehörigen Kontrollröhrchen sowie die drei Streptokokkenarten lebhaftes Wachstum zeigten. Die Kulturen wurden 8 Tage beobachtet, änderten aber ihr Verhalten nicht. Weiterhin sollte festgestellt werden: einerseits die schwächste Konzentration, die zur Wachstumshemmung der Streptokokken erforderlich ist, andererseits die stärkste Verdünnung des Optochins, welche Pneumokokken noch gedeihen läßt.

2. Versuch.

Zu diesem Zwecke wurde ein zweiter Versuch angesetzt, in dem Lösungen des Optochins hergestellt wurden, die von der im ersten Versuch angewandten divergierten: für die Streptokokken wurden die Lösungen 1 : 20 000, 1 : 10 000, 1 : 5000, für die Pneumokokken 1 : 200 000, 1 : 500 000, 1 : 1 000 000 gewählt und mit diesen die Stämme des ersten Versuches in der oben angegebenen Weise geprüft. Das Ergebnis zeigen die Tabellen IV und V.

Tabelle IV.

	Ascitesbouillon (1: 5)	Ascites-bouillon + A. dest.	Optochin-Ascitesbouillon 1: 5000	1: 10000	1: 20000
Strept. 1	+	+	−	+	+
„ 2	+	+	−	+	+
„ 3	+	+	−	+	+

+ = Wachstum
− = Hemmung

Tabelle V.

	Ascites-bouillon	Ascites-bouillon + A. dest.	1 : 200000	1 : 500000	1 : 1000000
Pneumoc. 1	+	+	−	−	+
„ 2	+	+	−	−	+
„ 3	+	+	−	−	+

Aus diesen ergibt sich, daß auch die Streptokokken schließlich durch das Optochin beeinflußt werden, und zwar bei einer Konzentration, die zwischen 1 : 5000 und 1 : 10 000 liegt. Andererseits bedarf es sehr hoher Verdünnungen des Optochins, um das Wachstum der Pneumokokken nicht zu stören: diese verhalten sich erst bei einer Verdünnung zwischen 1 : 500 000 bis 1 : 1 000 000 so wie auf einem ihnen zusagenden Nährboden.

Weitere Versuche.

Obige Verdünnungsgrade wurden nun allen weiteren Untersuchungen über Streptokokken und Pneumokokken zugrunde gelegt, doch, wie aus den Tabellen VI und VII hervorgeht, verschoben sich die Wachstumsgrenzen in geringem Grade.

Tabelle VI.

	Ascites-bouillon	Ascites-bouillon + A. dest.	1 : 5000	1 : 10000	1 : 20000
Streptoc. 4	+	+	—	+	+
„ 5	+	+	—	—	+
„ 6	+	+	—	+	+
„ 7	+	+	—	+	+
„ 8	+	+	—	+	+
„ 9	+	+	—	+	+
„ 10	+	+	—	+	+
„ 11	+	+	—	+	+
„ 12	+	+	—	+	+
„ 13	+	+	+	+	+
„ 14	+	+	—	—	+
„ 15	+	+	—	—	+
„ 16	+	+	+	+	+
„ 17	+	+	—	+	+
„ 18	+	+	—	+	+
„ 19	+	+	+	+	+
„ 20	+	+	+	+	+
„ 21	+	+	—	+	+

Tabelle VII.

	Ascites-bouillon	Ascites-bouillon + A. dest.	1 : 200000	1 : 500000	1 : 1000000
Pneumoc. 4	+	+	—	—	+
„ 5	+	+	—	—	+
„ 6	+	+	—	+	+
„ 7	+	+	—	—	+
„ 8	+	+	—	—	+
„ 9	+	+	—	+	+
Str. Mucos. 1	+	+	—	+	+
„ 2	+	+	—	—	+
„ 3	+	+	—	—	+

Während nämlich die meisten Streptokokken die in Tabelle IV festgestellten Wachstumsgrenzen innehalten, hört z. B. für die Stämme 5, 14, 15 das Wachstum schon zwischen 1 : 10 000 und 1 : 20 000 auf, andere (13, 16, 19, 20) dagegen wachsen noch bei 1 : 5000. Letztere wurden bei 1 : 2500 untersucht: hier wuchsen sie nicht weiter.

Auch bei den Pneumokokken und Streptococci mucosi (Tab. VII) sind kleine Schwankungen der Wachstumsgrenzen zu verzeichnen, doch ist bemerkenswert, daß für alle Stämme bei einer Verdünnung 1 : 200 000 ein Wachstum nicht mehr existiert, und ferner daß die Mucosi in ihrem Verhalten zum Optochin den Pneumokokken gleich sind.

Untersuchung von Meningo- und Gonokokken im Optochin.

Anschließend an diese Ergebnisse mußte dann noch von Interesse sein zu ermitteln, ob die Eigenschaft des Optochins, in so hohen Verdünnungen auf Bakterien zu wirken, sich nur auf Pneumokokken erstreckt oder auch auf andere Kokkenarten, die den Pneumokokken an Empfindlichkeit nahe stehen. Als solche kamen besonders Meningo- und Gonokokken in Betracht. Von ersteren wurden drei Stämme geprüft. Diese wurden aus Lumbalpunktaten gezüchtet, wuchsen auf der Blutplatte schwach, farblos und anhämolytisch. Auf Ascitesagar hatten sie starkes Wachstum. Sie agglutinierten mit Meningokokken-Serum, färbten sich nicht nach Gram und hatten wie die Gonokokken, deren Ausgangsmaterial ein Kniegelenkspunktat war, semmelförmige Gestalt. Sowohl Meningo- wie Gonokokken wuchsen nicht auf gewöhnlichem Agar.

Die Untersuchung der Meningokokken mit den Verdünnun-

gen 1 : 5000, 1 : 10 000, 1 : 20 000 ergab ein Resultat wie folgt (Tabelle VIII):

Tabelle VIII.

	Ascites-bouillon	Ascites-bouillon + A. dest	1:5000	1: 10000	1; 20000
Meningo-k 1	+	+	—	—	—
„ 2	+	+	—	—	—
„ 3	+	+	—	—	+

d. h. ein Meningokokkus wuchs noch bei 1 : 20 000, die anderen nicht. Darauf wurden alle Stämme mit den Verdünnungen 1 : 20 000, 1 : 50 000, 1 : 100 000 geprüft. Das Ergebnis enthält Tabelle IX:

Tabelle IX.

	Ascites bouillon	Ascites bouillon + A. dest	Optochin Ascitesbouillon 1:20000	1: 50000	1: 100000
Meningo-k. 1	+	+	—	+	+
„ 2	+	+	—	+	+
„ 3	+	+	+	+	+

Die Wachstumsgrenze liegt danach bei Meningokokkus 1 und 2 zwischen 1 : 50 000 und 1 : 20 000, bei dem dritten etwas höher, zwischen 1 : 20 000 und 1 : 10 000 (s. Tab. VIII).

Der eine Gonokokkenstamm hatte seine Grenze zwischen 1 : 100 000 und 1 : 50 000.

Zusammenfassung.

Das Resultat des ganzen Versuches ist nun folgendes: während auf der einen Seite Strepto-, Meningo- und Gonokokken durch die Optochinprobe nicht scharf von einander zu trennen sind, da ihre Wachstumsgrenzen vielfach ineinander übergehen (Strepto- und Meningokokken) resp. sich sehr nähern (Meningo- und Gonokokken), so gibt es zwischen den Strepto- und Pneumokokken ein weites Gebiet, wo sie sich nicht begegnen, das ist die Verdünnung 1 : 20 000 bis 1 : 200 000 (s. Tab. VI und VII), wo Streptokokken starkes Wachstum haben, Pneumokokken aber nicht mehr wachsen.

Praktische Anwendung.

Die Anwendung dieses Ergebnisses für die Praxis könnte vielleicht in der Weise vorgenommen werden, daß man sich eine Verdünnung von Optochin in Ascitesbouillon 1 : 100 000 wie alle anderen Nährböden vorrätig hält und im Eisschrank aufbewahrt. Man geht dabei von einer Stammlösung in A. d. 1 : 1000 aus — da bei höheren Konzentrationen das Optochin leicht ausfällt —, die man um das 100fache mit Ascitesbouillon verdünnt, und zwar wäre es zweckmäßig, erst die reine Bouillon mit der Optochinlösung zu versetzen, das Gemisch im Wasserbad bei 100° zu sterilisieren und dann die Ascitesflüssigkeit steril hinzuzufügen.

Daß das Optochin bei längerem Aufbewahren seine hemmende Kraft nicht einbüßt, ging aus einem Versuch hervor, der mit einer 8 Wochen alten Lösung von Optochin in Ascitesbouillon und dem Pneumokokkus 1 gemacht wurde; derselbe ergab das gleiche Resultat wie mit der frischen Lösung.

Schluß.

Worin nun die eigentümliche Wirkung des Optochins gerade auf die Pneumokokken besteht, konnte bei vorliegendem Versuche nicht festgestellt werden. Die Untersuchung einer 24stündigen und einer 8 Tage alten Pneumokokkenkultur in Optochin-Ascitesbouillon 1 : 200 000 im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparat ließ nur erkennen, daß die hineingeimpften Bakterien morphologisch nicht verändert waren. Es steht also nur soviel fest, daß die Wirkung des Optochins nicht eine auflösende wie die des Natrium taurocholicum ist, sondern in anderen Vorgängen gesucht werden muß, die noch der Erklärung bedürfen.

Zum Schlusse erlaube ich mir, Herrn Dr. Meyer, Leiter der bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses, meinen Dank auszusprechen für die Anregung zu dieser Arbeit und für die wertvolle Förderung bei ihrer Anfertigung.

Literaturverzeichnis.

1. Morgenroth und Levy, Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. Berliner Klinische Wochenschrift 1911 Nr. 34 und 35.
2. Morgenroth, Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion (Vortrag in der Berliner Medizinischen Gesellschaft, November 1914). Berl. Klin. Wochenschrift 1914 Nr. 47.
3. Neufeld und Schiemann, Chemotherapie der Pneumokokkeninfektion. Centralblatt für Bakteriologie 1913, Bd. 57 Nr. 14/22.
4. Neufeld, Auflösung von Pneumokokken durch gallensaure Salze. Zeitschrift für Hygiene 1900, Bd. 34.
5. Richard Levy, Differenzierung der Pneumokokken durch gallensaure Salze. Virchows Archiv 1907, Bd. 137.
6. Wright, Observations on the Pharmaco-Therapy of Pneumococcus Infections. Lancet, Dec. 1912.

Lebenslauf.

Geboren bin ich, Gertrud Nachmann, am 9. Juli 1883 in Berlin als Tochter des verstorbenen Kaufmanns Siegmund Nachmann und seiner Ehefrau Rosalie, geb. Weisblat. Ich bekenne mich zur mosaischen Religion. Meine Ausbildung erhielt ich zuerst auf der hiesigen Städtischen Sophienschule, später auf den Berliner Gymnasialkursen für Frauen. Im Herbst 1909 bestand ich das Abiturium auf dem Berliner Königstädtischen Realgymnasium. Dann wurde ich an der Universität Berlin immatrikuliert, wo ich meine ganze Studienzeit verbrachte. Im Februar 1912 bestand ich hier das Physikum und im August 1914 das ärztliche Staatsexamen. Im Oktober 1914 erhielt ich die Approbation als Aerztin.

Meine Lehrer waren die Herren Professoren:

Bier, Bonhoeffer, Czerny, Flügge, Franz, Gabriel, Goldscheider, Heffter, Hertwig, His, Killian, Krückmann, Lesser, Orth, Passow, Rubens, Rubner, Schulze, Virchow, Waldeyer.

Allen diesen meinen hochverehrten Lehrern sage ich meinen aufrichtigsten Dank.